

В.В. Гутник, Д.А. Готкович
**ИЗУЧЕНИЕ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ АКТИВНОСТИ КЛОНИДИНА
В ЭКСПЕРИМЕНТЕ НА ПЕРЕВИВАЕМОЙ КЛЕТОЧНОЙ КУЛЬТУРЕ
ГЛИОМЫ КРЫСЫ C6 IN VITRO**

***Научные руководители: ст. преп. С.Н. Чепелев,
канд. биол. наук М.О. Досина****
*Кафедра патологической физиологии,
Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск
Институт физиологии НАН Беларуси, г. Минск

V.V. Gutnik, D.A. Gotkovich
**STUDY OF THE ANTITUMOR ACTIVITY OF CLONIDIN IN AN EXPERIMENT
ON THE TRANSFERRED CELL CULTURE OF RAT C6 GLIOMA IN VITRO**

***Tutors: senior lecturer S.N. Chepelev,
PhD in Biology M.O. Dosina****
*Department of Pathological Physiology
Belarusian State Medical University, Minsk
Institute of Physiology, NAS of Belarus, Minsk

Резюме. В ходе исследования было установлено, что раствор клонидина в концентрации 100 мкг/мл эффективен в целях замедления роста и развития клеток глиомы С6 крысы.

Ключевые слова: клонидин, клетки глиомы С6, пролиферативная активность, жизнеспособность, эффективная концентрация.

Resume. The study found that a solution of clonidine at a concentration of 100 µg/ml is effective in slowing down the growth and development of rat C6 glioma cells.

Keywords: clonidine, C6 glioma cells, proliferation activity, viability, effective concentration.

Актуальность. Роль альфа2-адренорецепторов (A2-AP) в механизмах, ответственных за прогрессирование (пролиферацию и жизнеспособность) глиом, остается недостаточно изученным [1, 3]. Так, актуальным в настоящее время представляется уточнение вопроса о поведении клеток глиальных опухолей при контакте их мембраны с раствором, содержащим разные концентрации клонидина (препарата агониста A2-AP), поскольку доказано, что рецепторы, чувствительные к клонидину, содержатся на мембране некоторых опухолей головного мозга [2].

Цель: изучить жизнеспособность и пролиферативную активность клеток глиомы С6 крысы при аппликации клонидином в концентрациях 1, 10 и 100 мкг/мл.

Материал и методы. Исследование проведено на базе лаборатории нейрофизиологии ГНУ «Института физиологии НАН Беларуси» на перевиваемой культуре клеток глиомы С6 крысы. Клетки культивировали (концентрация $2,0 \times 10^5$ клеток/мл) в чашках Петри с диаметром основания 30 мм в среде F10 с добавлением 10%-ной эмбриональной бычьей сыворотки и 0,1 мкг/мл раствора сульфата гентамицина. Чашки Петри размещали в CO₂-инкубаторе при 5% CO₂ и температуре 37°C. Через 24 часа после начала культивирования клеток глиомы С6 добавляли в центральную часть чашки Петри клонидин в концентрациях 1, 10 и 100 мкг/мл. Для сравнения результатов использовали интактную культуру клеток глиомы С6. Оценку жизнеспособности

способности культивируемых клеток осуществляли с помощью подсчета количества клеток на микроскопе при 16-кратном увеличении после предварительной окраски трипановым синим. Жизнеспособные клетки при этом не окрашивались. Жизнеспособность определялась следующим образом: (количество живых клеток/общее количество клеток)*100%. Изменение пролиферативной активности клеток проводили путем анализа прироста клеточной массы. Для этого до начала и через 24 часа после начала эксперимента осуществлялось фотографирование в месте метки трех случайно выбранных полей, после чего оценивалась разница в изменении клеточной массы. Значения $p < 0,05$ считались статистически значимыми.

Результаты и их обсуждение. При анализе жизнеспособности культивируемых клеток глиомы С6 были получены следующие данные: в интактной группе жизнеспособность составила $93,63 \pm 0,89\%$, в группе 1 мкг/кг – $93,18 \pm 1,64\%$, в группе 10 мкг/кг – $95,42 \pm 0,98\%$, в группе 100 мкг/кг – $86,63 \pm 0,61\%$ ($p < 0,05$ по сравнению с интактной группой) (рисунок 1).

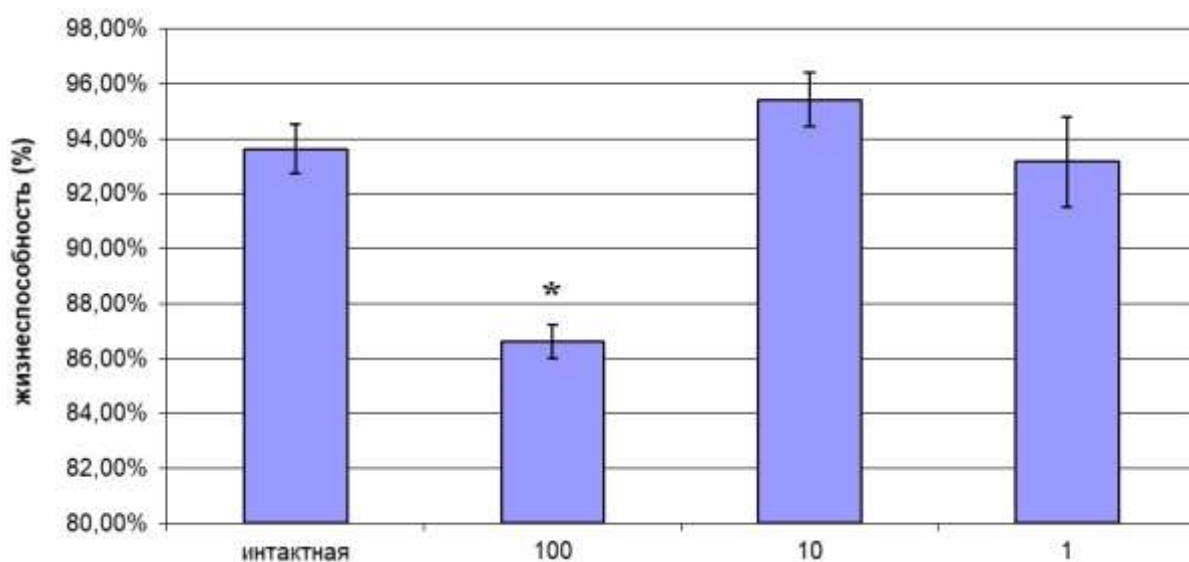


Рис. 1 – Изменение жизнеспособности культивируемых клеток глиомы С6 в интактной группе и в группах, в которых осуществлялась аппликация клонидина в концентрациях 1, 10 и 100 мкг/мл; * – $p < 0,05$ – различия статистически значимы

При изучении пролиферативной активности культивируемых клеток глиомы С6 были получены следующие данные: в интактной группе прирост клеточной массы составил $458,67 \pm 49,10$ клеток, в группе 1 мкг/кг – $425,33 \pm 21,36$ клеток, в группе 10 мкг/кг – $476,33 \pm 43,80$ клеток, в группе 100 мкг/кг – $305,67 \pm 32,17$ клеток ($p < 0,05$ по сравнению с интактной группой) (рисунок 2).

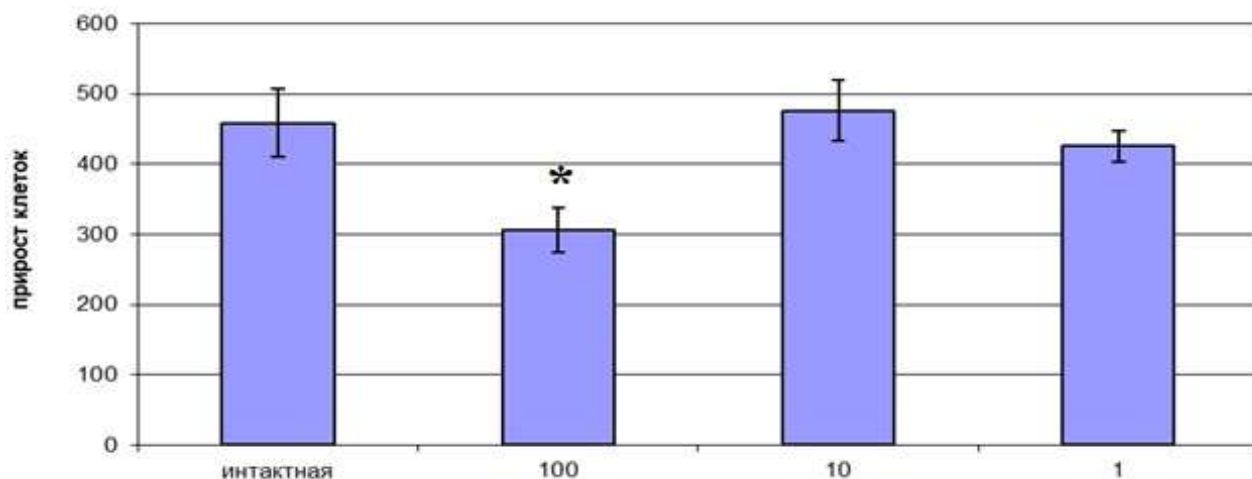


Рис. 2 – Изменение пролиферативной активности клеток глиомы С6 в интактной группе и в группах, в которых осуществлялась аппликация клонидина в концентрациях 1, 10 и 100 мкг/мл; * – $p < 0,05$ – различия статистически значимы

Исходя из полученных результатов можно предположить, что раствор клонидина в терапевтической концентрации 100 мкг/мл можно использовать не только как гипотензивное средство, но также для замедления роста и развития злокачественных опухолей головного мозга (глиом), что, конечно же, требует дальнейшего изучения данного препарата в экспериментах *in vivo*.

Заключение. Раствор клонидина в концентрации 100 мкг/мл эффективен в целях замедления пролиферативной активности и жизнеспособности клеток глиомы С6 крысы *in vitro*. При аппликации клонидином клеток глиомы С6 крысы в концентрациях 10 мкг/мл и 1 мкг/мл пролиферативная активность и жизнеспособность опухолевых клеток статистически значимо не изменяется.

Информация о внедрении результатов исследования. По результатам настоящего исследования опубликовано 16 статей в сборниках материалов, 7 тезисов докладов, получено 3 акта внедрения в образовательный процесс (кафедра патологической физиологии учреждения образования «Белорусский государственный медицинский университет», кафедра патологической анатомии учреждения образования «Белорусский государственный медицинский университет», кафедра фармакологии учреждения образования «Белорусский государственный медицинский университет»).

Литература

1. Висмонт, Ф. И. Общая патофизиология: учеб. пособие / Ф. И. Висмонт, Е.В. Леонова, А. В. Чантурия. – Минск: Вышэйшая школа., 2011. – 364 с.
2. Гутник, В. В. Клетки глиомы С6 крысы и их жизнеспособность, и пролиферативная активность в условиях аппликации клонидином *in vitro* / В. В. Гутник, Д. А. Готкович // Актуальные вопросы современной медицины: материалы III Дальневосточного медицинского молодежного форума. - Хабаровск: Изд-во ДВГМУ, 2019. - С. 490-493.
3. Bruzzone, A. $\alpha 2$ -Adrenoceptor action on cell proliferation and mammary tumour growth in mice / A. Bruzzone, C. P. Pinero, L. F. Castillo // Br J Pharmacol. – 2008. – Vol. 155, № 4. – P. 494–504.